



REC'D 18 NOV 1999

WIPO PCT

Bescheinigung

Die CENTEON PHARMA GMBH in Marburg/Deutschland hat eine Patentanmeldung
unter der Bezeichnung

„Zubereitung zur Stillung von Blutungen“

am 21. Juni 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprüng-
lichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig das Symbol
A 61 K 38/37 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 20. Oktober 1999

Der Präsident des Deutschen Patent- und Markenamts

Im Auftrag

Jerofsky

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Aktenzeichen: 199 28 371.0

M 09 11 99
-1-

CENTEON PHARMA GMBH
ANR 8177007

1999/Z009 – Ma 1211 – C 40
Dr. Lp / vm

Zubereitungen zur Stillung von Blutungen

Gegenstand der Erfindung sind Zubereitungen zur Stillung von Blutungen, bei der die hämostatischen Wirkungen eines Fibrinklebers genutzt werden.

Es ist bekannt, dass nach der Entstehung einer Wunde die Wundheilung durch eine Aktivierungskaskade mehrerer hintereinandergeschalteter Gerinnungsfaktoren eingeleitet wird. Daraus resultiert am Ende die Reaktion zwischen dem aktivierten Thrombin und Fibrinogen in Gegenwart von Kalziumionen zur Bildung einer Fibrinmatrix, die schließlich die Wunde abdeckt und somit eine Hämostase bewirkt. Diese Fibrinmatrix wird durch den aktivierten Faktor XIII (F XIIIa) über zusätzliche kovalente Bindungen weiter verfestigt, wodurch deren mechanische Stabilität und Resistenz gegen einen vorzeitigen proteolytischen Abbau erhöht wird.

In der modernen Chirurgie gewinnt die Hämostase durch Fibrinklebung zunehmend an Bedeutung, da es sich bei dem sogenannten Fibrinkleber um ein gut verträgliches und die Wundheilung förderndes Biomaterial handelt. Diese Methode eignet sich hervorragend zur Hämostase von stark blutenden Wunden bei Operationen an parenchymatösen, inneren Organen, bei Hauttransplantationen, in der Notfallchirurgie bei inneren und äußeren Verletzungen, vor allem aber auch zur unterstützenden Abdichtung von Nähten zur Vermeidung postoperativer Blutungen. In der

HNO- und Gesichts-Chirurgie wird für die Heilung äußerer Wunden der Fibrinkleber dem Nahtverschluss aus kosmetischen Gründen vorgezogen. Auch wird der Fibrinkleber zunehmend in der endoskopischen Chirurgie zum Beispiel zur Blutstillung von Magengeschwüren eingesetzt.

Die heute im Handel befindlichen Fibrinkleber wie Beriplast® enthalten neben anorganischen Salzen und Aminosäuren die aus dem Humanplasma gewonnenen Gerinnungsfaktoren Fibrinogen, Thrombin und Faktor XIII, zusätzlich aber auch Albumin und Fibronektin zur Förderung der Wundheilung. Obwohl das Präparat sehr gute biochemische und hämostatische Eigenschaften aufweist, bedarf es einer aufwendigen Vorbereitung vor seiner Anwendung. Die voneinander getrennten Fibrinogen- und Thrombinlyophilisate werden separat aufgelöst, in zwei voneinander getrennten Spritzen aufgezogen und in eine spezielle Halterung/Vorrichtung eingespannt. Dieses Verfahren erfordert neben viel Zeit auch gut geschultes Personal. Eine Variante des Fibrinklebers wird als Tissucol® bereits in fertig gelöster Form in Spritzen in den Handel gebracht, ist jedoch nur bei tiefen Temperaturen von -20°C lagerfähig und muss vor der Anwendung im Wasserbad aufgetaut werden. Somit finden beide Varianten des Fibrinklebers keine Anwendung in Situationen, wo ein gebrauchsfertiger und sofort ohne Vorbereitungen einsetzbarer Fibrinkleber von Nöten ist. Außerdem wäre ein gebrauchsfertiger und gut dosierbarer Fibrinkleber auch deshalb kostengünstiger, weil überschüssiges Material weder unnötig vorbereitet noch verworfen zu werden braucht.

Eine mögliche Verbesserung der Handhabung des Fibrinklebers könnte ein Einkomponentenkleber sein, der alle zur Bildung des Fibrins nötigen Komponenten in einem Kompartiment beinhaltet. Die Entwicklung eines Einkomponentenklebers in einer wässrigen Lösung ist allerdings in der Praxis sehr schwer realisierbar. Eine Möglichkeit besteht allenfalls darin, die Komponenten des Fibrinklebers im getrockneten Zustand zu mischen, womit sich diese nach Applikation auf der Wunde

in der Blutflüssigkeit oder dem Wundexsudat lösen und in situ eine Fibrinmatrix ausbilden, die eine Hämostase bewirkt. Dafür ist auch notwendig, das naturgemäß schwer lösliche Fibrinogen in eine derartige trockene Form zu bringen, aus der es rasch in Lösung geht und dabei sofort mit dem Thrombin reagiert.

Es hat auch schon Versuche gegeben, mit einem gezielten Lyophilisationsverfahren Partikel zu entwickeln, die Fibrinogen oder Thrombin enthalten und nach der Herstellung miteinander vermischt auf der Wunde aktiviert werden. So wird in der internationalen Patentanmeldung WO 97/44015 die Herstellung sogenannter Mikropartikel auf Fibrinogen- oder Thrombinbasis beschrieben, die jeweils einzeln sprühgetrocknet werden. Diese Mikropartikel bestehen zu über 90% aus Körnchen mit einer Größe bis zu 20 µm. Sie sollen gut löslich sein und können miteinander vermischt zur Wundheilung eingesetzt werden. Ein Nachteil dieser Mikropartikel ist allerdings, dass es sich dabei um ein sehr stark staubendes Pulver handelt, wodurch eine direkte Applikation wie das Aufstreuen auf eine Wunde nicht möglich ist. Ein derartiges Pulver benötigt daher ein spezielles Applikationssystem, was seine Handhabung und klinischen Indikationen drastisch einschränkt.

Diese Nachteile sind durch das in der deutschen Patentanmeldung 198 59 611.1 beschriebene Fibrinklebergranulat überwunden worden, das aus Granulatkörnchen besteht, die Thrombin, Faktor XIII, Fibrinogen und ein lösliches Kalziumsalz enthalten und eine Partikelgröße über 50 bis etwa 1.000 µm aufweisen. In diesen Granulatkörnchen können die vorstehend genannten Wirkstoffe entweder als ein Granulatgemisch oder als ein Mischgranulat vorliegen, bei dem alle zur Blutgerinnung erforderlichen Bestandteile in jedem einzelnen Granulatkörnchen vorliegen. Sowohl mit dem Granulatgemisch als auch mit dem Mischgranulat lassen sich nun zur Blutstillung hervorragend einsetzbare galenische Zubereitungen herstellen, die in einfachster Weise anwendbar sind und auch bei Bedarf an der Unfallstelle sofort zur Verfügung stehen, ohne dass es langwieriger Vorbereitungen bedarf.

Dieses Ziel wird durch ein bioabbaubares Wundvlies erreicht, das auch bei großflächigeren Hautverletzungen Blutungen zum Stillstand bringt. Dabei wird ein Fibrinklebergranulat auf das aus einem bioabbaubaren Polymeren bestehende Trägermaterial entweder direkt oder zusammen mit einem biokompatiblen Hilfsstoff aufgetragen, in welchem der Fibrinkleber eingebettet ist. Als hierfür geeignetes Trägermaterial eignen sich vor allem natürliches oder chemisch modifiziertes Kollagen, Keratin, Gelatine, Kohlenhydrate oder Cellulosederivate. Das Trägermaterial kann auch aus einem synthetischen, bioabbaubaren Polymeren bestehen. Geeignet sind u.a. Polyhydroxy-carbonsäuren, Polyester, Polycyanoacrylate, Polyaminosäuren, Polyalkohole sowie Silikone. Auf dieses Trägermaterial wird vorzugsweise eine Zubereitung aufgetragen, die das Fibrinogen in einer Menge von 0,05 bis 50 mg/cm², vorzugsweise 1 bis 20 mg/cm² sowie Thrombin in einer Menge von 1 µg bis 10 mg/cm², vorzugsweise 0,05 bis 2 mg/cm² enthält. Zur Verbesserung der Anhaftung können der Fibrinkleberzubereitung als Hilfsstoffe Polyethylenglykol (PEG) mit einer geeigneten Molekülgröße oder ein Gemisch mehrerer Polyethylenglykole unterschiedlicher Molekülgrößen zugesetzt werden.

Eine weitere Verbesserung bei der Blutstillung lässt sich dadurch erreichen, dass das beschriebene Wundvlies auf eine Bandage oder ein Pflaster aufgetragen wird. Dabei soll die Bandage an der zur Auflage auf die blutende Wunde vorgesehenen Stelle mit einem erfindungsgemäßen Wundvlies beschichtet sein. Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Bandage werden Polyethylenglykol 4.000 oder Polyethylenglykol 6.000 oder deren Gemisch bevorzugt eingesetzt. Dabei wird das Polyethylenglykol zur Herstellung der Beschichtungsmasse in einem organischen Lösungsmittel, bevorzugt Isopropanol, gelöst, das in einer Konzentration von 0,5 bis 70%, bevorzugt in einer Konzentration von 5 bis 30% (w/v) eingesetzt wird. Das Fibrinklebergranulat wird auf der Bandage ausgebreitet und dann mit der Isopropanol-Polyethylenglykol 600-Lösung benetzt. Nach Abdampfen des organischen Lö-

sungsmittel erhält man ein bioabbaubares Wundvlies, welches eine gut haftende Fibrinkleberbeschichtung besetzt. Das organische Lösungsmittel eignet sich zur Beschichtung deshalb hervorragend, weil es leicht abdampfbar ist, die Reaktion zu Fibrin unterbindet und die Wiederfindung der Aktivität der einzelnen Komponenten gewährleistet. Außerdem bleibt die Granulatform nach Behandlung im organischen Lösungsmittel, bevorzugt Isopropanol, erhalten. Eine andere Ausgestaltung der Erfindung besteht darin, noch soviel an „intertem“¹ Lösungsmittel zurückzubehalten, daß eine Paste entsteht, die in Tuben, vorzugsweise 1-5 ml Einmaltuben, abgefüllt werden kann, siehe unten auch die salben- bzw. gelartige Zubereitung.

Im allgemeinen wird das erfindungsgemäße Wundvlies nur einseitig mit der beschriebenen blutungsstillenden, salben- oder gelartigen Zubereitung versehen. Es gibt allerdings auch Anwendungsfälle, in denen eine zweiseitige Beschichtung des Wundvlieses vorzuziehen ist. Wird die Wunde mit einer derartigen Bandage umwickelt, dann entfaltet sich die blutstillende Wirkung des Fibrinklebers unmittelbar auf der Wunde, sobald unter der Einwirkung des Wundsekrets aus den in der Bandagenaufgabe enthaltenen Bestandteilen das Fibrin gebildet wird. Die Anwendung kann in vielen Fällen noch dadurch erleichtert werden, dass das erfindungsgemäße Wundvlies auf ein zur Pflasterfertigung geeignetes, wasserdichtes oder wasserdurchlässiges Flächenmaterial aufgetragen wird, wobei an den Rändern des Pflasters Klebeflächen freibleiben, die mit einem physiologisch gut verträglichen Klebstoff beschichtet sind. Mit einem derartigen Pflaster lässt sich die blutende Wunde schnell, einfach und dauerhaft bedecken und bewirkt eine alsbaldige Blutstillung.

¹ inert heißt in diesem Zusammenhang, daß die enzymatischen Aktivitäten der suspendierten Proteine / Enzyme in Gegenwart des wasserfreien Lösungsmittels gehemmt werden, bei Zutritt von Wasser diese Hemmung jedoch aufgehoben ist.

Eine Blutstillung lässt sich in einfachster Weise auch durch eine salben- oder gelartige Zubereitung erreichen, die aus einer hydrophilen, wasserfreien Salbengrundlage besteht, in die Partikel eines Fibrinklebers eingebettet sind. Als hydrophile wasserfreie Salbengrundlage eignen sich ganz besonders Polyole, zum Beispiel Polyethylenglykole, Polypropylenglykole oder Ethylen-Propylencopolymere, in denen die Partikel des Fibrinklebers gleichmäßig verteilt sind, und die die im Wundsekret enthaltene Feuchtigkeit aufnehmen. Aus den Bestandteilen des Fibrinklebers bildet sich dann bei Feuchtigkeitszutritt sofort ein Fibringeflecht, das die Wunde schnell und wirksam abdeckt und die Blutung zum Stillstand bringt. Es liegt auf der Hand, dass für diese Einsatzzweck fetthaltige und wasserabstoßende Salbengrundlagen nicht geeignet sind.

Der in der erfindungsgemäßen Zubereitungen enthaltene Fibrinkleber enthält eine trockene Mischung von Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin und einem löslichen Kalziumsalz. Die Zubereitung kann zweckmäßigerweise auch in eine Salbentube abgefüllt werden und ist dann über längere Zeit haltbar und kann in dieser Form unmittelbar eingesetzt werden.

Die Wirksamkeit der vorstehend beschriebenen, zur Blutstillung geeigneten Zubereitungen ist natürlich nur dann gewährleistet, wenn vor ihrer Anwendung der Zutritt von wässrigen Flüssigkeiten und damit eine vorzeitige Fibrinbildung vermieden wird. Hierauf ist auch schon bei der Herstellung der Zubereitungen Rücksicht zu nehmen. Ganz besonders gut geeignet für die Herstellung sind die in der deutschen Patentanmeldung 198 59 611.1 beschriebenen Fibrinkleber-Granulatgemische oder -Mischgranulate, die entweder zweiphasig durch Sprühtrocknung einer Fibrinogenlösung einerseits und einer Thrombinlösung andererseits oder aber einphasig durch Sprühtrocknung der in einem organischen Lösungsmittel wie Isopropanol suspendierten Fibrinkleber Bestandteile Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin und einem löslichen Kalziumsalz hergestellt werden können. Die so hergestellten

Granulatgemische oder Mischgranulate können dann mit der hydrophilen, aber wasserfreien Salbengrundlage in an sich bekannter Weise angeteigt werden. Die hierbei entstehende salben- oder gelartige Zubereitung kann dann auf das bioabbaubare Trägermaterial zur Herstellung eines Wundvlieses aufgestrichen oder direkt verwendet werden.

Eine weitere Verbesserung der erfindungsgemäßen Zubereitungen lässt sich erreichen, wenn außer dem Fibrinkleber weitere, die Wundheilung fördernde biologische, pflanzliche oder synthetische Wirkstoffe wie Immunglobuline, Chemotherapeutika oder Antibiotika zugesetzt werden.

Das erfindungsgemäße Wundvlies, die Bandage oder das Pflaster oder die salben- oder gelartige Zubereitung können zur Hämostase innerer oder äußerer Wunden in einfachster Weise wirkungsvoll eingesetzt werden.

Das erfindungsgemäße abbaubare und mit einem Fibrinkleber beschichtete Wundvlies wird durch die nachfolgenden Beispiele näher erläutert:

Beispiel 1:

Auf ein 50 x 50 mm² Ethisorb® Patch Typ 6 (Ethicon GmbH) werden 250 mg Fibrinkleberpulver bzw. -granulat aufgetragen und gleichmäßig verteilt (=10 mg Fibrinkleberpulver bzw. -granulat pro cm²) verteilt. Dann werden auf die Beschichtung insgesamt 2,5 ml einer Lösung von Isopropanol/20% PEG 6000 gleichmäßig aufgesprüht. Nach Abdampfen des Isopropanols erhält man eine bioabbaubare Bandage, bestehend aus einem Trägermaterial und einer gut haftenden Fibrinkleberbeschichtung, die beim Biegen der Bandage nicht abbröckelt.

Beispiel 2:

Auf ein 20 x 30 mm² großes Vicryl-Vlies (Ethicon GmbH) werden 60 mg Fibrinkleberpulver bzw. -granulat aufgetragen und gleichmäßig verteilt. (= 10 mg Pulver/cm²). Dann werden auf die Beschichtung insgesamt 0,6 ml einer Lösung von Isopropanol/20% PEG 6000 gleichmäßig aufgesprüht. Nach dem Abdampfen des Isopropanols wird eine flexible, bioabbaubare Bandage mit einer gut haftenden Fibrinkleberbeschichtung erhalten.

Beispiel 3:

Das Kollagenvlies Interceed (Johnson & Johnson), Größe 50 x 50 mm², wird mit 250 mg Fibrinkleberpulver bzw. -granulat gleichmäßig versetzt. Dann werden auf die Beschichtung insgesamt 0,6 ml einer Lösung von Isopropanol/10% PEG 6000 gleichmäßig aufgesprüht. Nach Abdampfen des Isopropanols erhält man ein Fibrinkleber-kombiniertes Kollagenvlies.

CENTEON PHARMA GMBH
ANR 8177007

1999/Z009 – Ma 1211 – C 40
Dr. Lp / vm

Patentansprüche:

1. Zubereitung zur Stillung von Blutungen, **dadurch gekennzeichnet**, dass es ein aus einem bioabbaubaren Trägermaterial bestehendes Wundvlies enthält, welches mit einem Fibrinklebergranulat beschichtet ist.
2. Zubereitung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Wundvlies mit einer hydrophilen, wasserfreien Salbengrundlage beschichtet ist, in die ein Fibrinkleber eingebettet ist.
3. Wundvlies nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass das bioabbaubare Trägermaterial aus natürlichem oder chemisch modifiziertem Kollagen, Keratin, Gelatine, Kohlenhydraten oder Cellulosederivaten besteht.
4. Wundvlies nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß das bioabbaubare Trägermaterial aus einem Polymeren aus der Gruppe der Polyhydroxycarbonsäuren, der Polyester, der Polycyanoacrylate, der Polyaminosäuren, der Polyalkohole oder der Silikone besteht.
5. Wundvlies nach den Ansprüchen 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass es Fibrinogen in einer Menge von 0,05 bis 50 mg/cm² und Thrombin in einer Menge von 1 µg bis 20 mg/cm² enthält.

6. Wundvlies nach den Ansprüchen 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass die den Fibrinkleber enthaltende Zubereitung einseitig oder beidseitig auf das Trägermaterial aufgetragen ist.
7. Bandage, **dadurch gekennzeichnet**, dass sie an der zur Auflage auf die blutende Wunde vorgesehenen Stelle mit einem Wundvlies der Ansprüche 1 bis 6 beschichtet ist.
8. Pflaster, **dadurch gekennzeichnet**, dass es aus einem wasserdichten oder wasserdurchlässigen Flächenmaterial besteht, das an den zur Auflage auf die blutende Wunde vorgesehenen Stellen mit einem Wundvlies der Ansprüche 1 bis 6 beschichtet ist und an den Rändern Klebeflächen aufweist.
9. Zubereitung zur Stillung von Blutungen, **dadurch gekennzeichnet**, dass sie aus einer hydrophilen, wasserfreien Salbengrundlage besteht, in die Partikel eines Fibrinklebers eingebettet sind.
10. Zubereitung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Salbengrundlage Polyole enthält oder aus ihnen besteht.
11. Zubereitung nach den Ansprüchen 9 und 10, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Fibrinkleber eine trockene Mischung von Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin und einem löslichen Kalziumsalz ist.
12. Verfahren zur Herstellung einer Zubereitung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß der als Granulatgemisch oder als Mischgranulat vorliegende Fibrinkleber auf ein bioabbaubares Trägermaterial aufgeschichtet wird.

13. Verfahren zur Herstellung der Zubereitungen der Ansprüche 2 bis 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass ein als Granulatgemisch oder als Mischgranulat vorliegender Fibrinkleber mit der hydrophilen, wasserfreien Salbengrundlage angeteigt und gegebenenfalls auf das Trägermaterial aufgestrichen wird.

14. Verfahren nach den Ansprüchen 12 bis 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Salbengrundlage außer dem Fibrinkleber weitere, die Wundheilung fördernde, biologische, pflanzliche oder synthetische Wirkstoffe wie Immunglobuline, Chemotherapeutika oder Antibiotika zugesetzt werden.

15. Verwendung des Wundvlieses, der Bandage, des Pflasters oder der salben- oder gelartigen Zubereitung der Ansprüche 1 bis 11 zur Hämostase innerer oder äußerer Wunden.

Zusammenfassung:

Zubereitungen zur Stillung von Blutungen

Es werden Zubereitungen zur Stillung von Blutungen beschrieben, die ein aus einem bioabbaubaren Trägermaterial bestehendes Wundvlies enthalten, welches mit einem Fibrinklebergranulat beschichtet ist. Das Fibrinklebergranulat kann dabei auch in eine hydrophile, wasserfreie Salbengrundlage eingebettet sein. Damit lassen sich bioabbaubare Wundvliese, Bandagen und Pflaster herstellen, die zur Blutstillung hervorragend geeignet sind. Die Herstellung dieser Zubereitungen zur Wundversorgung erfolgt vorzugsweise dadurch, dass ein als Granulatgemisch oder als Mischgranulat vorliegender Fibrinkleber eingesetzt wird.



1
2
3

4